

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.27.004

文章编号: 1005-8982 (2018) 27-0015-07

临床研究 · 论著

长链非编码 RNA HOTAIR 对胃肠间质瘤 细胞化疗敏感性的影响

李冰, 熊正方, 郭亚民

(青海省人民医院 普外科, 青海 西宁 810000)

摘要:目的 研究长链非编码 RNA (lncRNA) HOTAIR 对胃肠间质瘤细胞伊马替尼化疗敏感性的影响, 并探讨其作用机制。**方法** 首先在胃肠间质瘤组织中检测 HOTAIR 的表达水平。选择胃肠间质瘤细胞 GIST-T1 为研究对象, si 干扰 HOTAIR 后, 采用 dUTP 缺口末端标记测定法 (TUNEL) 和半抑制浓度 (IC_{50}) 法检测 GIST-T1 对伊马替尼化疗敏感性的变化。通过实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 法、RNAhybird 软件分析和荧光素酶报告法, 筛选并验证与 HOTAIR 存在内源性竞争关系的 miRNAs。最后将 miRNA 与 HOTAIR 共转染, 观察 HOTAIR 与 miRNA 的竞争性结合能否改变 GIST-T1 细胞对伊马替尼的化疗敏感性。**结果** HOTAIR 在胃肠间质瘤组织中表达含量高于正常组织 ($P < 0.05$)。伊马替尼药物作用下, si-HOTAIR 组细胞 IC_{50} 低于 si-NC 组 ($P < 0.05$); TUNEL 阳性细胞比例高于 si-NC 组 ($P < 0.05$); 差异有统计学意义。qRT-PCR 结果显示, si-HOTAIR 组细胞 miRNA-21 表达水平高于 si-NC 组 ($P < 0.05$); RNA hybrid 分析及荧光素酶验证结果显示 HOTAIR 与 miR-21 核心序列区存在碱基互补。将 miRNA-21 与 HOTAIR 共转染 GIST-T1 细胞后, 与 miRNA-21+HOTAIR-突变型组比较, miRNA-21+HOTAIR-野生型组细胞 IC_{50} 增高 ($P < 0.05$); TUNEL 阳性细胞比例降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 长链非编码 RNA HOTAIR 可通过内源性竞争结合 miRNA-21, 降低胃肠间质瘤细胞对伊马替尼的化疗敏感性。

关键词: 长链非编码 RNA; 胃肠间质瘤; 化疗; miRNAs

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

Effect of long chain noncoding RNA HOTAIR on chemo-sensitivity of gastrointestinal stromal tumor cells

Bing Li, Zheng-fang Xiong, Ya-min Guo

(Department of General Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, Qinghai 810000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of long chain noncoding RNA (lncRNA) HOTAIR on chemo-sensitivity of gastrointestinal stromal tumor (GIST) cells to Imatinib. **Methods** Expression level of HOTAIR in GIST tissues and GIST-T1 cell line was measured. HOTAIR was knocked down by siRNA. Chemo-sensitivity of GIST-T1 cell line against was identified by TUNEL and IC_{50} . Endogenously competitive binding miRNAs was screened with RNA-hybrid software analysis, qRT-PCR and luciferase reporter HOTAIR. Chemo-sensitivity of the cell line against Imatinib was further validated through co-transfection of miRNA and HOTAIR. **Results** Expressed of HOTAIR was enhanced in gastrointestinal stromal tumor tissue compared with normal tissue ($P < 0.05$). The IC_{50} of Imatinib in GIST-T1 cells transfected with si-HOTAIR was decreased when compared with that in cells transfected with si-NC ($P < 0.05$). TUNEL analysis indicated that positive staining cells was increased in GIST-T1 cells transfected with si-HOTAIR compared with cells transfected with si-NC under imatinib stimulation ($P < 0.05$). QRT-PCR showed that expression of miRNA-21 was upregulated in GIST-T1 cells transfected with si-HOTAIR compared

收稿日期: 2017-09-28

with GIST-T1 cells transfected with si-NC ($P < 0.05$). RNA-hybrid analysis and luciferase validation confirmed that HOTAIR obtained complementary base pair to "seed" zone of miR-21. Moreover, co-transfection of GIST-T1 cells and miRNA-21 induced increased concentration of IC_{50} and decreased levels of positive staining of cells in TUNEL analysis when compared with those in genetically mutant cell line ($P < 0.05$). **Conclusions** Long chain noncoding RNA HOTAIR reduces the sensitivity of gastrointestinal stromal tumor cells against Imatinib through endogenously competitive miRNA-21.

Keywords: LncRNA; GISTs; chemotherapy; miRNAs

胃肠间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 是胃肠道常见的间质恶性肿瘤, 手术切除结合伊马替尼化疗是目前较理想的治疗方案^[1]。但在化疗后期, GIST 患者对伊马替尼敏感性的逐步降低, 最终导致患者生存周期缩短^[1-2]。研究发现, 长链非编码 HOX 转录反义 RNA (long chain noncoding HOX transcript antisense RNA, HOTAIR) 不仅在肿瘤细胞增殖、凋亡中发挥重要作用, 还通过内源性竞争微小 RNA (MicroRNAs, miRNA) 控肿瘤细胞的化疗耐药^[3]。本研究以 GIST-T1 细胞为研究对象, 探讨 HOTAIR 是否可通过 miRNAs 对细胞的化疗敏感性发挥调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

伊马替尼购自上海 21CEC PX 药业公司, 胃肠间质瘤细胞 GIST-T1 由西安交通大学基础医学院实验室馈赠。10 例胃肠间质瘤组织及配对正常组织由青海省人民医院普外科手术提供, 并通过医院伦理委员会论证; 培养基 (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM) 及胎牛血清购自上海酶远生物科技有限公司, HOTAIR (743-752) 野生型、突变型质粒、si-HOTAIR 及荧光素酶质粒由上海和元生物公司合成, 实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司, miRNA-133、miRNA-137、miRNA-185、miRNA-21、miRNA-218、miRNA-332 及 miRNA-518 引物购自上海和元生物公司, 细胞计数试剂盒 (Cell Counting Kit-8, CCK-8)、TdT 末端标记 (TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 试剂盒购自南京凯基生物有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 细胞培养及小干扰 RNA (Small interfering RNA, siRNA) si- 下调 HOTAIR 表达 胃肠间质瘤细胞 GIST-T1 用含 10% 小牛血清的 DMEM 培养基, 置 5% 二氧化碳 CO_2 , 37℃ 孵箱中常规传代培养, 选择对数

生长期的细胞用于后期实验。将合成的 si-HOTAIR (5'-GAACGGGAGUACAGAGAGA-3') 用 Lipofectamine™ 3000 转染, 48 h 后换液, 用于 qRT-PCR 检测。

1.2.2 半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 测定 细胞经伊马替尼处理后, 按 70% ~ 80% 浓度比例铺于 96 孔板, 待细胞完全贴壁后, 每孔加入 CCK-8 试剂 10 μ l, 放入细胞培养箱孵育 3 h, 分别在 24、48、72 及 96 h 用酶标仪检测 A450 nm 处光密度值 (OD 值)。每组至少重复检查 3 次。按伊马替尼药物浓度的细胞存活率, 作对数曲线, 用 SPSS 软件计算细胞 50% 生存率时的药物浓度 IC_{50} 。

1.2.3 TUNEL 检测细胞凋亡 细胞经伊马替尼处理后, 采用 4% 多聚甲醛固定, PBS 清洗 3 次, 室温下依次进行通透, 末端脱氧核苷酸转移酶 (terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT) 反应液反应、荧光标记试剂作用、4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 染色, 在荧光显微镜下观察, 随机选择 8 个视野下统计阳性细胞数。

1.2.4 荧光素酶活性强度检测 采用 Lipofectamine™ 3000 阳离子脂质体法对 GIST-T1 细胞进行转染。将质粒 lncRNA-3'-UTR 野生型 (wild type, wt)、lncRNA-3'-UTR 突变型 (mutant type, mut)、阴性对照 (negative control, NC) 转染至 GIST-T1 细胞。并归为相应组别。lncRNA-3'UTR 野生型序列 (743-752) 为 5'-UUGGUGUUC-3'; lncRNA-3'-UTR 突变型序列 (743-752) 为 5'-GGGUCCCGG-3'。共转染 miRNA-21 mimics、inhibitor 或 miRNA-NC; 细胞裂解后上机检测荧光素酶活性强度。原则上, 参考 Promega 公司 Dual-Luciferase Reporter Assay System E1910 荧光酶活性检测说明书完成, 适当做调整。将萤火虫荧光素酶的荧光值进行归一化 (海肾荧光素酶荧光值), 每组实验重复 3 次, 取平均值进行后续统计分析。

1.2.5 qRT-PCR 检测 lncRNA HOTAIR 和 miRNAs 水平含量 选择 U6 为内参。HOTAIR 引物: 正向 AGCCAGAGGAGGGAAGAGAG, 反向 TCCCGTTCCTAGATTTTCC。miRNA-21、miRNA-133、miRNA-

137、miRNA-185、miRNA-218、miRNA-332、miRNA-518 和 U6 引物由上海合元公司合成。miRNA-21 引物, 正向 CGGGATCCAGCCACTACCAAGGCATGT T, 反向 CGGAATTCAACCACGACTAGAGGCTGAC; miRNA-133 引物, 正向 UUUGGUCCCCUUAACCAG CUA, 反向 GCUGGUUGAAGGGGACCAAAU; miRNA-137 引物, 正向 GCGUUAUUGCUUAAGAAUAC, 反向 CAGTGCAGGGTCCGAGGT; miRNA-185 引物, 正向 GTGATGAGATGGGCACTGTC, 反向 TCCTCTGCATTGA TCACCAT; miRNA-218 引物正向 ACAGCAGGCACA GACAGGCAGU, 反向 UGCCUGUCUGGCCUGCUGUU U; miRNA-332 引物, 正向 GGGTCTTTGGTTATCTAG C, 反向 TGCCTGTCGTGGAGTC; miRNA-518 引物, 正向 GGCTTCAGATGGACACACGA, 反向 GCTCTCCGC TCTAATGGCTT; U6 引物, 正向 CTCGCTTCGGCAGC ACA, 反向 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间数据的比较采用 t 检验或重复测量设计的方差分析, 两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA HOTAIR 在 GIST 组织及正常组织中的表达水平

GIST 组织与正常组织中的 lncRNA HOTAIR 含量比较, 差异有统计学意义 ($t = 3.091, P = 0.042$), GIST 组织中 lncRNA HOTAIR 表达含量高于正常组织 (见图 1)。

2.2 GIST-T1 细胞 si-HOTAIR 的干扰效果

si-HOTAIR 组与 si-NC 组细胞中的 HOTAIR 表达含量比较, 差异有统计学意义 ($t = 14.315, P = 0.007$), si-HOTAIR 组细胞中 lncRNA HOTAIR 表达含量低于 si-NC 组细胞 (见图 2)。

2.3 HOTAIR 对 GIST-T1 细胞伊马替尼化疗敏感性的影响

TUNEL 结果显示, si-HOTAIR 组细胞 DNA 损伤阳性细胞比例为 (21.4 ± 4.3)%, si-NC 组 (10.5 ± 1.6)%。两组 DNA 损伤阳性细胞比较, 差异有统计学意义 ($t = 3.384, P = 0.037$)。si-NC 组与 si-HOTAIR 组吸光度值比较采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点间的 OD 值有差异 ($F = 169.564, P =$

0.000); ②组间 OD 值有差异 ($F = 69.861, P = 0.000$), si-HOTAIR 组与 si-NC 组比较, OD 值较低, 提示 HOTAIR 干扰后, 细胞增殖降低。③两组的 OD 指标变化趋势有差异 ($F = 16.297, P = 0.000$), 见表 1。根据 OD 值计算各组对于 IC_{50} 值。si-HOTAIR 组细胞伊马替尼 IC_{50} 为 (14.8 ± 2.6) $\mu\text{mol/L}$, si-NC 组伊马替尼 IC_{50} 为 (26.7 ± 2.4) $\mu\text{mol/L}$, 两组比较, 差异有统计学意义 ($t = 3.716, P = 0.032$), si-HOTAIR 组细胞对伊马替尼的敏感性高于 si-NC 组 (见图 3)。

2.4 HOTAIR 与 miRNA-21 的相互关系

si-HOTAIR 组与 si-NC 组细胞 miRNA-21 表达含量比较, 差异有统计学意义 ($t = 12.714, P = 0.008$), si-HOTAIR 组细胞 miRNA-21 表达含量高于 si-NC 对照组 (见图 4A)。RNA hybrid 分析显示, HOTAIR 序列中 743-752 区域与 miRNA-21 核心区域碱基互补 (见图 4B)。荧光素酶报告显示, 在转染 wt-3'-UTR-HOTAIR 的 GIST-T1 细胞中, miRNA-21 组与 miRNA-NC 组进行荧光素酶活性比较, 差异有统计学意义 ($t =$

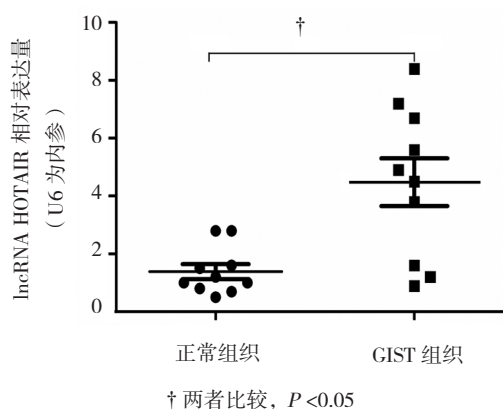


图 1 LncRNA HOTAIR 在 GIST 组织及正常组织中的相对表达量

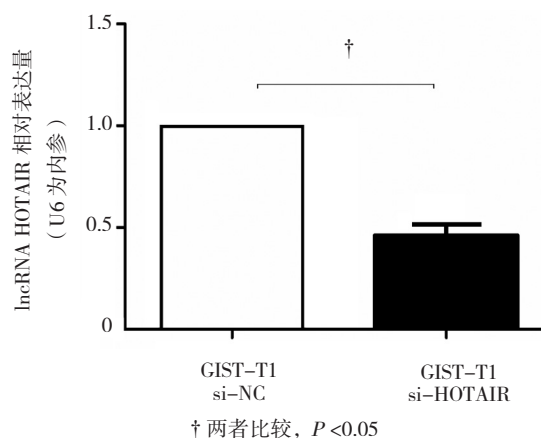
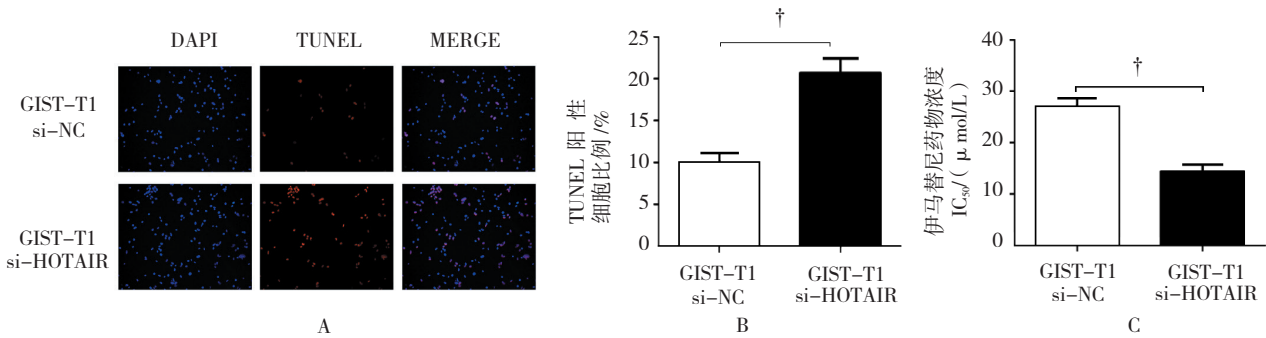


图 2 LncRNA HOTAIR 的相对表达量

表 1 si-NC 组与 si-HOTAIR 组在不同时间点 OD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h	96 h
si-NC 组	0.132 ± 0.004	0.184 ± 0.006	0.647 ± 0.065	1.144 ± 0.072
si-HOTAIR 组	0.134 ± 0.003	0.166 ± 0.005	0.436 ± 0.048	0.867 ± 0.049



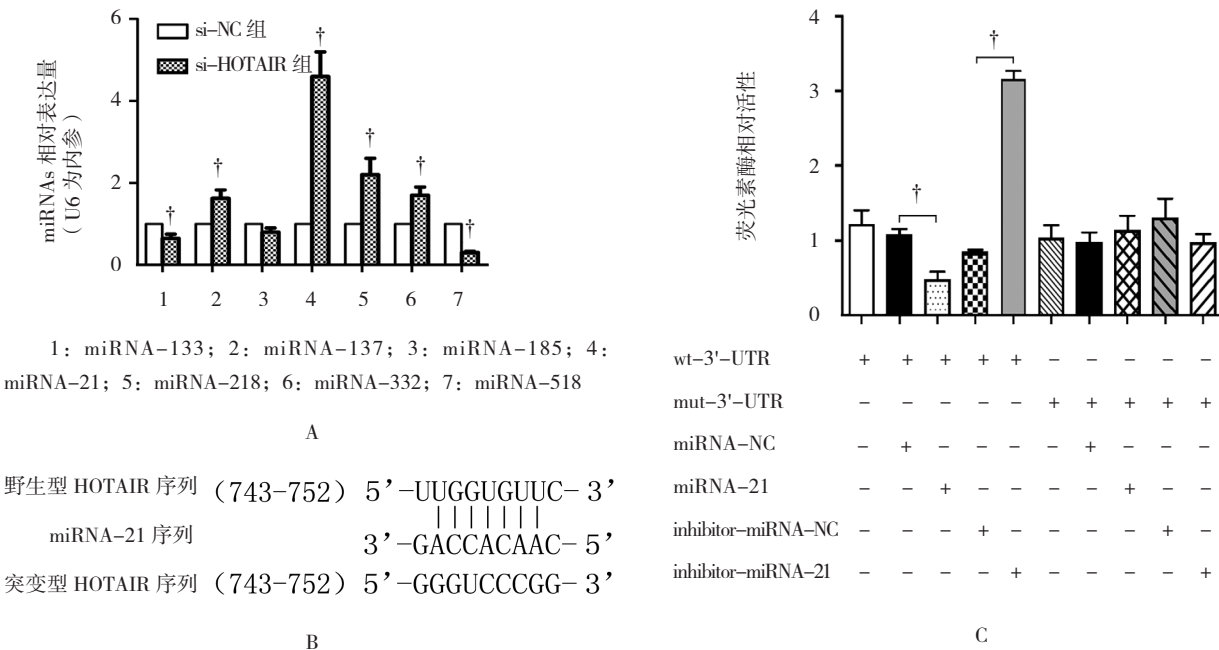
A: TUNEL 法观察下阳性细胞比 (×200), DAPI 代表细胞核, TUNEL 代表 DNA 损伤阳性细胞, MERGE 为合图; B: 柱状图为随机选择 8 个视野下的统计学分析; C: GIST-T1 细胞伊马替尼 IC₅₀ 数值。† 两者比较, P<0.05

图 3 HOTAIR 对 GIST-T1 细胞伊马替尼化疗敏感性的影响

3.192, P=0.041); inhibitor-miRNA-21 组与 inhibitor-miRNA-NC 组进行荧光素酶活性比较, 差异有统计学意义 (t=12.672, P=0.008); 在转染 mut-3'-UTR-HOTAIR 的 GIST-T1 细胞中, 将 miRNA-21 组与 miRNA-NC 组、inhibitor-miRNA-21 组与 inhibitor-miRNA-NC 组分别进行荧光素酶活性比较, 差异无统计学意义 (P>0.05), HOTAIR 与 miRNA-21 存在序列结合的关系 (见图 4C)。

2.5 HOTAIR 竞争性结合 miRNA-21 对 GIST-T1 细胞伊马替尼化疗敏感性的影响

TUNEL 法结果显示, miRNA-21+NC 组 DNA 损伤阳性细胞比例为 (18.7±2.5)%, miRNA-21+HOTAIR-wt(野生型)组为 (8.7±1.4)%, miRNA-21+HOTAIR-mut(突变型)组为 (17.2±2.6)%, 经方差分析, 差异有统计学意义 (F=6.354, P=0.034)。经 LSD-t 检验两两比较, miR-21+NC 和 miRNA-21+



A: miRNAs 相对表达量; B: RNAhybird 分析 HOTAIR 与 miRNA-21 序列; C: 荧光素酶相对活性。† 两者比较, P<0.05

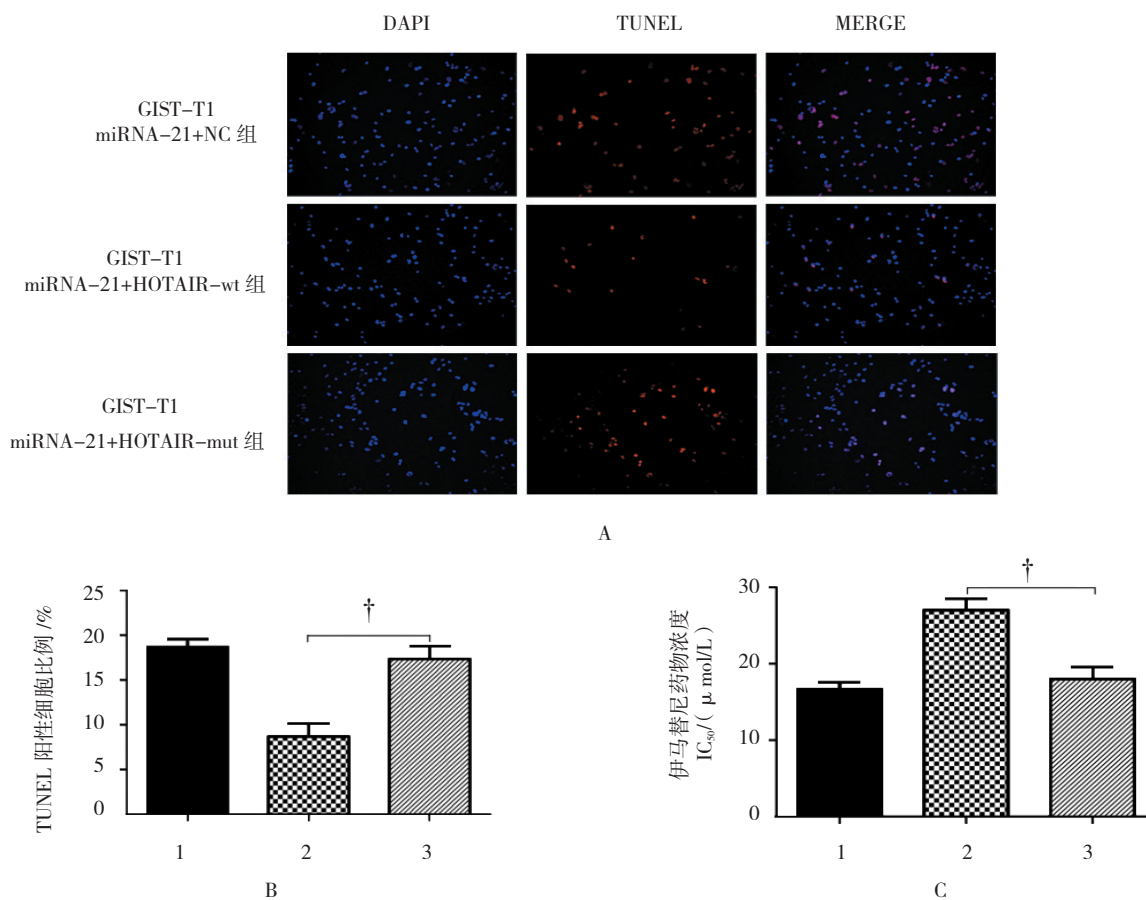
图 4 HOTAIR 与 miRNA-21 的相互关系

HOTAIR-mut 组 TUNEL 阳性细胞比例高于 miRNA-21+HOTAIR-wt 组 ($t=7.214$ 和 8.133 , $P=0.024$ 和 0.018), miR-21+NC 组与 miRNA-21+HOTAIR-mut 组比较差异无统计学意义 ($t=1.307$, $P>0.05$)。3 组吸光度值比较采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点间的 OD 值有差异 ($F=203.973$, $P=0.000$)。②3 组间的 OD 值有差异 ($F=54.027$, $P=0.000$), miRNA-21+HOTAIR-wt 组与 miRNA-21+HOTAIR-mut 组比较, OD 值较高, 提示 HOTAIR 突变后, 细胞增殖程度较低。③ miRNA-21+HOTAIR-wt 组与 miRNA-21+HOTAIR-mut 组的 OD 指标变化趋势有差异 ($F=10.705$, $P=0.000$),

见表 2。根据 OD 值计算各组对于 IC₅₀ 值。IC₅₀ 结果显示: miRNA-21+NC 组细胞 (17.6 ± 2.2) $\mu\text{mol/L}$, miRNA-21+HOTAIR-wt(野生型)组细胞为 (27.3 ± 3.1) $\mu\text{mol/L}$, miRNA-21+HOTAIR-mut(突变型)组细胞为 (18.1 ± 2.9) $\mu\text{mol/L}$, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=9.268$, $P=0.017$)。经 LSD- t 检验两两比较, miRNA-21+NC 组和 miRNA-21+HOTAIR-mut 组 IC₅₀ 低于 miRNA-21+HOTAIR-wt 组 (均 $P<0.05$), miRNA-21+NC 组与 miRNA-21+HOTAIR-mut 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。HOTAIR 可通过竞争性结合 miRNA-21, 降低 GIST-T1 细胞对伊马替尼化疗敏感性。见图 5。

表 2 3 组细胞在不同时间点 OD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h	96 h
miRNA-21+NC 组	0.137 \pm 0.003	0.658 \pm 0.016	0.901 \pm 0.069	1.471 \pm 0.086
miRNA-21+HOTAIR-wt 组	0.169 \pm 0.004	0.733 \pm 0.035	1.059 \pm 0.072	1.927 \pm 0.089
miRNA-21+HOTAIR-mut 组	0.158 \pm 0.003	0.591 \pm 0.015	0.872 \pm 0.051	1.508 \pm 0.076



1: miRNA-21+NC 组; 2: miRNA-21+HOTAIR-wt 组; 3: miRNA-21+HOTAIR-mut 组

A: TUNEL 法观察阳性细胞比例 ($\times 200$), DAPI 代表细胞核, TUNEL 代表 DNA 损伤阳性细胞, MERGE 为合图; B: 柱状图为随机选择 8 个视野下的统计学分析; C: GIST-T1 细胞伊马替尼 IC₅₀ 数值。† 两者比较, $P<0.05$

图 5 HOTAIR 对 GIST-T1 细胞伊马替尼化疗敏感性的影响

3 讨论

国内外大量研究发现, lncRNA HOTAIR 在肺癌、胃癌及乳腺癌的化疗耐药中发挥重要作用。如 Deng 等在肺癌中发现, HOTAIR 通过调控细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子, 导致细胞周期停滞, 介导顺铂耐药^[4]。有学者通过调查大样本的临床数据, 指出 HOTAIR 可能是顺铂耐药性卵巢癌的潜在治疗靶点^[5]。本研究所收集的 GIST 样本中, HOTAIR 的表达含量高于配对的正常组织。结合细胞水平的研究结果显示: lncRNA HOTAIR 在 GIST 耐药细胞中表达含量高于敏感细胞系^[6]; 提示 HOTAIR 可能在 GIST 的化疗中, 起抑制药物敏感性的作用。

此外, 近年来研究表明, lncRNA HOTAIR 还在多个消化系统肿瘤的预后分析中发挥重要作用。如 HOTAIR 的过度表达与肝癌、胃癌、食管鳞状细胞癌的复发密切相关, 并提示肿瘤转移和预后不良^[7]。SMEKALOVA 等在小鼠的肝癌模型中, 对 HOTAIR 进行抑制后, 肝癌细胞增殖速率降低, 对化疗药物的敏感性增高^[8]。本研究中, HOTAIR 干扰后, GIST 细胞对伊马替尼的敏感性增高, 提示 HOTAIR 可能参与 GIST 的伊马替尼化疗耐药。

在作用机制的研究中发现, 目前国内外专家一致认为 lncRNAs 可以在转录水平、转录后水平、染色质重构 3 个层面发挥调控作用, 并表现出一定的时间和空间性。Protoso 等认为 lncRNAs 可通过募集特异的染色质或内源竞争 RNA (competing endogenous RNAs, ceRNA) 机制, 诱导表观遗传学的调控。如 lncRNAs Xist/RepA 可通过募集多梳家族蛋白 (polycomb-group proteins, PRC2) 与果蝇 zeste 基因增强子同源物 2 相互作用后, 提高其在 X 染色体的密度, 抑制 X 染色体的活性^[9]。还有学者发现, 肝癌细胞中, lncRNA-UCA1 通过结合 miR-216b, 进一步激活细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 信号通路, 导致肿瘤细胞的恶性增殖^[10]。HOTAIR 调控转录的重要机制之一就是分子诱饵 (molecular decoys)。lncRNAs HOTAIR 作为 ceRNA, 与 miRNAs 小分子的核心序列结合, 通过与编码基因竞争性结合 miRNAs, 降低后者对下游靶基因的抑制作用。如国内有学者在胃癌细胞中, HOTAIR 通过吸附 miR-331, 调控人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 的活性, 进而改变细胞的恶性生物学行为^[11]。

本研究中, 荧光素酶实验证实 miRNA-21 可通过对 HOTAIR 部分序列结合, 降低荧光素酶的相对活性; 同时还发现, 对相应结合序列进行突变后, 荧光素酶的活性未见明显改变, 结合前期基因序列分析结果, 提示 lncRNA 的部分序列与 miRNA-21 序列存在互补, 在 GIST-T1 细胞中, HOTAIR 可通过 ceRNA 机制结合 miRNA-21, 从而发挥相应的作用。将 lncRNA HOTAIR 与 miRNA-21 共同转染 GIST-T1 细胞后发现, 突变型的 HOTAIR 未能影响 GIST-T1 细胞在伊马替尼刺激下的凋亡速度, 而野生型的 HOTAIR 可与 miRNA-21 核心序列结合, 降低 TUNEL 阳性细胞比例。提示 HOTAIR 可通过 ceRNA 机制, 调控 miR-21 活性, 进一步降低 GIST-T1 细胞对伊马替尼的敏感性。

此外, 国内外多数学者认为, ceRNA 机制中, lncRNAs 与 miRNAs 并非完全的一一对应关系。如 lncRNA MALAT1 可以通过抑制 miRNA-146b、miRNA-143 和 miRNA-124 的活性, 调控多个肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[12-13]; 而 lncRNA CASC2 与 lncRNA CRNDE 均可与 miR-181a 的核心序列区结合, 分别调控胶质瘤及结肠癌对化疗药物的耐药性^[14]。在本研究中, 敲减 HOTAIR 后发现, 除 miRNA-21 外, miRNA-137、miRNA-332 和 miRNA-218 同样出现变化, 提示 HOTAIR 可能有多个调控基因, 有待后期进一步探索。同时应注意到, HOTAIR 调控肿瘤细胞的化疗耐药并非完全依赖于 miRNAs。如在小细胞肺癌中, HOTAIR 可通过影响同源框 A1 基因的甲基化水平, 降低细胞对多柔比星、顺铂和依托泊苷等化疗药物的敏感性; 或通过作用于某信号传导通路, 直接作用于肿瘤凋亡相关蛋白, 改变 DNA 损伤修复及细胞周期进程等发挥作用^[15]。

本研究的不足之处在于仅验证 HOTAIR 是否通过 ceRNA 机制调控 GIST 对伊马替尼的敏感性。后续可通过耐药基因的甲基化、细胞周期蛋白的调控或细胞自噬等方面进行深入研究。此外, 本研究的细胞系较为单一, 组织样本数量较少, 后续将在多个 GIST 细胞系及动物模型水平进行验证。总之, HOTAIR 可通过抑制 miRNA-21 的活性, 影响 GIST 对伊马替尼的敏感性, 有望为 GIST 的化疗提供新的实验依据。

参 考 文 献:

- [1] 刘秀峰, 李健, 李勇. 伊马替尼一线治疗国人晚期胃肠间质瘤获益人群特征分析: 多中心 8 年随访数据 [J]. 临床肿瘤学杂志,

- 2016, 21(2): 97-105.
- [2] 韩鸿彬, 王公平, 陈晔. 小肠间质瘤 45 例临床诊治分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(17): 121-124.
- [3] SHANG C, GUO Y, ZHANG H, et al. Long noncoding RNA HOTAIR is a prognostic biomarker and inhibits chemosensitivity to doxorubicin in bladder transitional cell carcinoma[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 77(3): 507-513.
- [4] DENG J, YANG M, JIANG R, et al. Long non-coding RNA HOTAIR regulates the proliferation, self-renewal capacity, tumor formation and migration of the cancer stem-like cell (CSC) subpopulation enriched from breast cancer cells[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): 0860-0871.
- [5] SHIH E L, ALLISON J. HOTAIR and its surrogate DNA methylation signature indicate carboplatin resistance in ovarian cancer[J]. *Genome Med*, 2015, 7(3): 108-120.
- [6] LEE N K, LEE J H, KIM W K, et al. Promoter methylation of PCDH10 by HOTAIR regulates the progression of gastrointestinal stromal tumors[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46): 75307-75318.
- [7] LI H M, YANG H, WEN D Y, et al. Overexpression of LncRNA HOTAIR is associated with poor prognosis in thyroid carcinoma: A study based on TCGA and GEO data[J]. *Horm Metab Res*, 2017, 49(5): 388-399.
- [8] SMEKALVA E M, KOTELEVTSYEV Y V, LEBOEUF D, et al. LncRNA in the liver: Prospects for fundamental research and therapy by RNA interference[J]. *Biochimie*, 2016, 131(12): 159-172.
- [9] PROTOSO M, RAGAZZINI R, MOIANI A, et al. PRC2 is dispensable for HOTAIR mediated transcriptional repression[J]. *EMBO J*, 2017, 36(8): 981-994.
- [10] WANG F, YING H Q, HE B S, et al. Upregulated lncRNA-UCA1 contributes to progression of hepatocellular carcinoma through inhibition of miR-216b and activation of FGFR1/ERK signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 7899-7917.
- [11] PAN W, LIU L, WEI J, et al. A functional lncRNA HOTAIR genetic variant contributes to gastric cancer susceptibility[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(1): 90-96.
- [12] WU L, WANG X, GUO Y, et al. Long non-coding RNA MALAT1 is upregulated and involved in cell proliferation, migration and apoptosis in ovarian cancer[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(6): 3055-3060.
- [13] LI C, MIAO R, LIU S, et al. Down-regulation of miR-146b-5p by long noncoding RNA MALAT1 in hepatocellular carcinoma promotes cancer growth and metastasis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28683-28695.
- [14] HAN P, LI J W, ZHANG B M, et al. The lncRNA CRNDE promotes colorectal cancer cell proliferation and chemoresistance via miR-181a-5p-mediated regulation of Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 9-21.
- [15] YU X, LI Z. Long non-coding RNA HOTAIR: A novel oncogene (Review)[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(4B): 5611-5618.

(王荣兵 编辑)